肌球蛋白轻链激酶介导肠黏膜上皮屏障功能变化的研究进展

王梦雅[1,2]　高　民[2]　徐　明[1]　胡红莲[2*]

（1.内蒙古农业大学动物科学学院，呼和浩特 010018；2.内蒙古农牧业科学院动物营养与饲料研究所，呼和浩特 010031）

摘　要：肠黏膜通透性改变与肌球蛋白轻链激酶(MLCK)的调节密切相关，MLCK 介导磷酸化肌球蛋白轻链(P-MLC)所引起的细胞骨架收缩是引起肠黏膜上皮屏障功能破坏的必要因素，多种信号分子可通过不同的信号通路激活 MLCK，从而引起肠黏膜上皮屏障功能紊乱。本文分别从 MLCK 的结构、生物学功能以及 MLCK 在不同信号通路中对肠黏膜上皮屏障的调控作用及机制进行阐述，以期为今后探索防治肠黏膜上皮屏障功能损伤的新型技术措施提供思路和理论支持。

关键词：肌球蛋白轻链激酶；肌球蛋白轻链；肠黏膜上皮；通透性；作用机制

中国分类号：S811.2　　　　　文献标识码：A　　　　　文章编号：

肠道是动物机体消化吸收营养物质的主要场所，而黏膜作为肠道上皮的重要屏障，可有效阻挡肠道内微生物及其毒素向体内其他组织器官和血液循环扩散[1]，在侵袭与抗侵袭过程中保持动态稳定[2]。肠黏膜上皮屏障的完整性对于维持消化系统甚至整个动物机体的健康具有重要作用，当其遭到破坏或功能失调会促进肠道感染性疾病的发生，严重时会导致全身性炎症反应或多器官功能衰竭[3-4]。肌球蛋白轻链激酶（myosin light chain kinase,MLCK）是肠黏膜上皮屏障功能变化最主要的钙调素激酶，随着对其结构和功能的深入研究，MLCK 在介导肠黏膜上皮通透性改变中所起的作用受到众多学者的广泛关注，近年来已成为分子生物学和细胞生物学领域的研究热点之一。因此，了解 MLCK 介导肠黏膜上皮屏障功能变化的调控机制对动物营养学研究具有重要意义。

1　MLCK 的结构及生物学功能

1.1　MLCK 的基本结构

收稿日期：2018-05-18

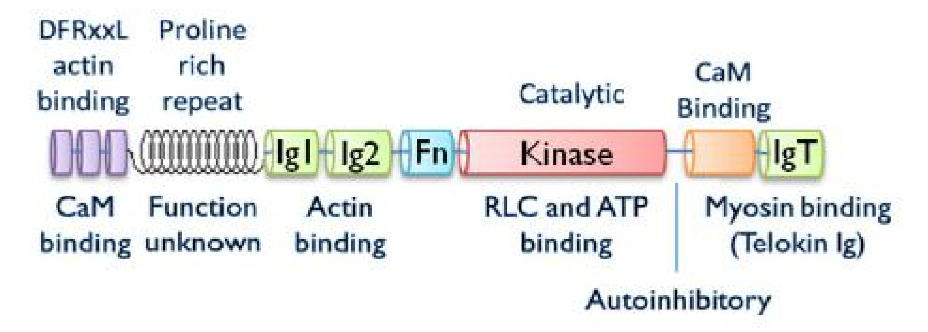
基金项目：国家自然科学基金（31472124，31101739）；内蒙古自然科学基金（2015MS0380）；杨胜先生门生社群项目（B2016011）；现代农业（奶牛）产业技术体系建设专项资金（CARS-36）；2016 年度内蒙古自治区“草原英才”工程青年创新人才培养计划

作者简介：王梦雅（1993-），女，河北石家庄人，硕士研究生，从事反刍动物营养研究。E-mail: 1550057124@qq.com

*通信作者：胡红莲，研究员，E-mail: honglianhu2010@163.com

MLCK 是第 1 个被发现的依赖于钙调蛋白(calmodulin,CaM)的丝氨酸/苏氨酸特异性蛋白激酶，在真核生物的肌细胞以及哺乳动物的非肌细胞中动态调节肌动球蛋白重组和细胞收缩[5]。MLCK 在哺乳动物中主要由 *mylk*1 和 *mylk*2 2 种基因编码[6]，分为横纹肌型 MLCK(skeletal muscle MLCK,skMLCK)和平滑肌型 MLCK(smooth muscle MLCK,smMLCK)，二者分别位于不同的染色体上，其中 *skMLCK* 仅限于在骨骼肌组织中表达，其基因编码 1 个催化结构域以及由自动抑制区和 Ca^{2+}/CaM 结合序列组成的调节区域[7]。但由于启动子的不同，*smMLCK* 以细胞特异性方式表达出 3 种转录本。其中分子质量为 130 ku 的称为短链 MLCK(*S-MLCK*)，在机体的大多数组织中都有表达，其在胃肠道基本紧张状态的维持、胃排空以及小肠推动等基本动力方面发挥重要的调节作用[8]；而分子质量为 220 ku 的称为长链 MLCK(*L-MLCK*)，主要分布于胚胎组织、体外培养细胞、上皮细胞和非肌细胞中[9]。研究发现，在肠上皮细胞中，肌球蛋白轻链（myosin light chain,MLC）发生磷酸化主要是由 *L-MLCK* 表达所引起[10]。*smMLCK* 基因的第 3 种转录本编码的是 C 末端的免疫球蛋白 T（lgT）样结构。

Feng 等[11]研究发现，哺乳动物 smMLCK 保守结构域如图 1 所示。smMLCK N 末端的肌动蛋白结合位点由 3 个 DFRxxL 基序组成，且能与纯化的 F 肌动蛋白结合，将酶锁定在收缩装置内[12-13]。Ig1 和 Ig2 2 个免疫球蛋白结构域也与肌动蛋白结合[14]，而 IgT 结构域与 C 末端的平滑肌肌球蛋白(smooth muscle myosin,SMM)结合，该结构蛋白对于维持平滑肌细胞中肌球蛋白纤维的稳定性具有重要作用[15]。中心激酶结构域作为 MLCK、三磷酸腺苷(adenosine triphosphate,ATP)以及调节性肌球蛋白II轻链(regulatory myosin Ⅱ light chain,RLC)结合位点的催化部位，可将 ATP 上的磷酸转运到底物上[16]。



DFRxxL：D、F、R 和 L 分别为天冬氨酸、苯丙氨酸、精氨酸和亮氨酸，x 为任意氨基酸；Actin binding：肌动蛋白结合位点；CaM binding：钙调蛋白结构域；Proline rich repeat：脯氨酸丰富的重复区域；Function unknown：功能未知；Ig1：免疫球蛋白 1；Ig2：免疫球蛋

白 2；Fn：纤维蛋白 3 型结构域；Catalytic：催化；Kinase：激酶结构域；RLC and ATP binding：调节性肌球蛋白II轻链和三磷酸腺苷结合位点；Autoinhibitory：自抑制作用；IgT：免疫球蛋白 T；Myosin binding：肌球蛋白结合位点；Telokin Ig：免疫球蛋白超级家族 Telokin 蛋白。

图 1　哺乳动物 smMLCK 结构域

Fig.1　Domain structure of smMLCK of mammalian[11]

除此之外，在非脊椎动物中也发现了与 MLCK 有关的激酶。在果蝇中，一个有复杂启动子的基因会产生多个具有相同末端的转录本[17]，较小的转录本(3.2~5.2 kb)编码的蛋白质与哺乳动物的 MLCK 大小相似；而较大的转录本(13~25 kb)编码的蛋白质类似于哺乳动物的蛋白质 titins；最大的转录本(25 kb)编码 1 个 926 ku 的 stretchin MLCK。另外，在线虫和海兔中表达的 *MLCK* 相关激酶为 twitchin，其也有 1 个结合到催化结构域上的自动抑制区，但不含有 Ca^{2+}/CaM 结合序列，是由 Ca^{2+}结合蛋白 S100A1_2 激活[18]。在盘基网柄菌中表达的 *MLCK* 只含有催化结构域和被磷酸化以激活的调节区域，是结构最为简单的一种[19]。

1.2　MLCK 的生物学功能

MLCK 是细胞收缩的关键调控因子，其主要功能是介导 MLC 发生磷酸化[20-21]，研究表明，Ca^{2+}/CaM 是 MLCK 活性最重要的调节器。当外来不同信号刺激时，细胞内游离的 Ca^{2+} 浓度升高，Ca^{2+}首先与 CaM 结合形成 Ca^{2+}/CaM 复合体，MLCK 能够与 Ca^{2+}/CaM 复合体结合解除 MLCK 的天然抑制序列，形成激活的 p-MLCK[7,11]。而 p-MLCK 使 MLC 上第 18 位苏氨酸(Thr18)和第 19 位丝氨酸(Ser19)残基的磷酸化水平升高，改变 MLC 的空间构象[22]。磷酸化的 MLC 可活化肌球蛋白重链头部的 ATP 酶，所产生的能量使肌动蛋白与肌球蛋白相互作用，介导肌动蛋白发生收缩。Ca^{2+}/CaM 也可与 DFRxxL 结合导致肌动蛋白结合减弱[23]，使细胞骨架肌动蛋白微丝滑动，引起细胞骨架重排，细胞发生向心性收缩，细胞间的紧密连接(tight junction,TJ)被破坏，直接催化 MLC 从非磷酸化型向磷酸化型转变，导致细胞黏膜通透性增加[24]。此外，Kamm 等[7]和 Simard 等[25]研究发现，MLCK 不仅可以调节细胞收缩，而且对细胞迁移、运动以及细胞凋亡具有调控作用。

2　MLCK 介导肠黏膜上皮屏障功能变化的信号转导机制

机械屏障作为肠黏膜屏障的重要组成部分，主要由肠上皮细胞和相邻细胞间的连接构成。而细胞要协调发挥各种功能，则有赖于细胞黏着和细胞连接。细胞的连接方式主要分为

TJ、黏着连接(adhesion junction,AJ)、间隙连接(gap junction,GJ)和桥粒连接（desmosome junction,DJ）[26]，其中 TJ 是肠上皮细胞间最重要的连接方式，调控着水和溶质等小分子物质的跨上皮转运，是决定细胞间通透性的关键因素[27]，在肠黏膜上皮屏障功能的维护中起着举足轻重的作用。TJ 的结构蛋白主要由跨膜蛋白家族(包括 Claudin、Occludin)和外周支架蛋白 ZO 构成。Blair 等[28]研究发现，MLCK 通过调节 Claudin、Occludin 及 ZO 的蛋白质表达，可引起肠黏膜通透性增加，由此可知，MLCK 在 TJ 通透性动态调节过程中发挥重要作用[29]。研究表明，上皮细胞收缩性改变是不同原因引起肠黏膜通透性增加的共同通路，主要受骨架蛋白中肌球蛋白和肌动蛋白的影响，肌球蛋白的主要作用是调控细胞骨架结构并参与细胞的多种生理活动，而这些主要是通过 MLC 的磷酸化与去磷酸化来实现。MLC 发生磷酸化是生物屏障通透性增加的分子基础[30-31]，是肠上皮 TJ 屏障功能障碍的关键所在。多种细胞因子、炎症介质等神经及体液介质均可通过 MLC 磷酸化而引起黏膜通透性增加[32-33]。因此，在 MLCK 介导的肠黏膜上皮细胞通透性增加中，效应分子 MLC 磷酸化是关键环节，而 MLCK 的激活可通过下列途径进行调控。

2.1 促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase,MAPK)信号通路

MAPK 属于丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶，由 Sturgill 等[34]首次从 3T3-L1 脂肪母细胞中纯化出来。研究证实，MAPK 存在于所有生物体的大多数细胞内，是真核生物细胞重要的信号转导系统之一，可将细胞外信号刺激传导至细胞及其核内部。MAPK 通过影响基因转录和调控，进而影响细胞的生物学功能[35]。MAPK 信号转导通路在细胞内具有生物进化的高度保守性。目前发现，MAPK 信号系统主要包括细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase,ERK)、p38 MAPK 和 c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase,JNK)，其中 ERK 在维持细胞形态和构建细胞骨架方面发挥重要作用。研究表明，ERK1/2 的激活可促使下游转录激活因子 ETS 样蛋白 1(Elk-1)的激活并迁移到细胞核内，与位于最小启动子区域(-310~-296)内的顺式结合位点相结合，触发 *MLCK* 基因活化以及 MLC 磷酸化，导致肠上皮细胞 TJ 受损，黏膜通透性增加[36]。另有研究表明，同型半胱氨酸通过促进丝裂原活化细胞外信号调节激酶(mitogen-activated extracellular signal-regulated kinase,MEK)-ERK-MLCK 蛋白磷酸化影响结肠炎大鼠的肠黏膜通透性，进而加重肠道的炎症过程[37]。而 Al-Sadi 等[36]发现，白细胞介素-1β（IL-1β）诱导的肠上皮细胞 TJ 通透性增加是通过 ERK1/2 信号转导途

径调节 *MLCK* 基因表达来介导的，在敲除 *ERK*1/2 或使用 ERK1/2 抑制剂后能有效抑制 MLC 磷酸化。因此，ERK 在 MLCK 诱导的肠黏膜上皮细胞通透性增加中起到重要作用。

在烧伤引起的小鼠肠道屏障功能损伤中，p38 MAPK 信号通路可激活 MLCK，导致肠黏膜组织形态发生改变，上皮细胞间 TJ 通透性增加。注射 p38 MAPK 抑制剂后会降低 p38 MAPK 磷酸化水平和 *MLCK* 基因表达水平。由此可见，MAPK 信号通路在 MLCK 介导的肠黏膜上皮屏障功能紊乱及细胞通透性改变中占据重要地位。

2.2　MLCK 介导的 MLC 磷酸化信号通路

肠黏膜通透性改变与 MLCK 的调节密切相关，而 MLC 发生磷酸化是肠黏膜上皮 TJ 屏障功能障碍的关键所在。Moriez 等[38]研究发现，注射脂多糖后大鼠的上皮细胞 TJ 扩张，MLCK 被激活，MLC 磷酸化程度增加，使得细胞收缩和细胞间隙形成，最终影响结肠黏膜的通透性。注射 MLCK 特异性抑制剂 ML-7 后能够显著降低 MLCK 的活性及其所诱导的屏障功能紊乱。研究报道，用炎性因子肿瘤坏死因子-α（TNF-α）和干扰素-γ（IFN-γ）处理后的单层上皮细胞模型中，*MLCK* 的表达水平上调，MLC 磷酸化明显升高，上皮细胞的屏障功能遭到破坏，而这些结果均能够被 MLCK 抑制剂所改善[39]。以上结果表明，MLCK 所介导的 MLC 磷酸化信号通路在内毒素或不同炎性因子所引起的肠上皮屏障功能损害的发生机制中具有重要作用。

陈传莉[40]研究表明，小鼠早期严重烧伤以及缺氧引起的肠黏膜通透性升高，会伴随有 MLCK 蛋白表达水平及 MLC 磷酸化程度增加，注射 ML-9 抑制剂后 MLC 磷酸化被抑制。除此之外，MLCK 所介导的 MLC 磷酸化信号通路也参与了热应激所导致的肠黏膜上皮屏障功能损害的发生，当注射 ML-7 特异性抑制剂后能够阻止 MLC 磷酸化以及肠黏膜上皮通透性增加。

MLC 磷酸化除了主要受 MLCK 的调控外，还受到肌球蛋白轻链磷酸酶(myosin light chain phosphatase,MLCP)的负调控[41]。Rho 激酶(Rho kinase,ROCK)能够与 MLCP 亚基作用，造成 MLCP 失活，进而阻止 MLCP 对 MLC 的去磷酸化作用，使得胞浆内的 MLC 磷酸化水平增加[42]。严重烧伤后肠黏膜 ROCK 激活和 MLC 磷酸化水平增加，是导致大鼠肠黏膜通透性增加及屏障功能损害的分子机制之一。因此，ROCK 激活是导致 MLC 磷酸化的又一原因。

2.3　蛋白激酶 C(protein kinase C,PKC)

PKC是20世纪70年代被发现的一类由Ca^{2+}激活的磷脂依赖性蛋白激酶，在哺乳动物的组织、器官以及细胞中广泛分布，通过蛋白质磷酸化的催化作用，对动物细胞生长、分化、代谢、信息传递及信号转导等具有重要的调节作用[43]。PKC的分子质量为70~90 ku，分子结构由N端的调节区域和C端的催化区域组成，该蛋白激酶一旦被激活会转移到细胞膜对其蛋白底物进行磷酸化作用并引发许多细胞内反应[44]，但在不同的细胞中，PKC激活的亚型及主要通路有所不同。作为一种蛋白激酶，PKC可直接作用于MLC的丝氨酸/苏氨酸残基，使MLC发生磷酸化；也可通过激活MLCK，引起细胞骨架蛋白MLC磷酸化而导致细胞结构蛋白的重组排列[45]。研究表明，当肠黏膜上皮细胞PKC被激活后，MLCK磷酸化状态及其酶活性会发生改变，进而引起MLC磷酸化状态的改变，影响周围连接肌动球蛋白环的收缩，最终导致肠黏膜上皮通透性增加[46]。因此，PKC可通过磷酸化MLCK介导肠黏膜上皮屏障功能发生改变。

2.4 Ca^{2+}浓度

Ca^{2+}在维持肠黏膜上皮正常生理功能中扮演重要角色，细胞内游离Ca^{2+}浓度改变调节着细胞的能量代谢、蛋白质磷酸化和去磷酸化修饰、基因表达和调控等活动[47]。Ca^{2+}是调节MLCK活性的最基本介质，通过与CaM结合并激活MLCK是决定MLC磷酸化和引起细胞收缩的重要因素[23,48]。研究表明，细胞外Ca^{2+}浓度降低时能够激活细胞内MLCK的活性，肌动蛋白和肌球蛋白发生向心性收缩，细胞间TJ破坏，进而导致肠黏膜上皮屏障功能遭到破坏，使其通透性增加[49]。Ma等[50]研究发现，Ca^{2+}诱导的肠黏膜上皮TJ屏障功能改变与MLCK激活有关，使用MLCK抑制剂ML-7后能够阻止MLCK活化以及肠黏膜上皮细胞通透性增加，这说明Ca^{2+}通过活化MLCK引起肠黏膜上皮通透性增加。此外，Ca^{2+}通道是一种细胞膜上的、与Ca^{2+}转运相关的特定蛋白质，其激活对于细胞内外Ca^{2+}浓度的调控至关重要，Ca^{2+}通道在MLCK介导肠黏膜上皮通透性增加的过程中也发挥重要作用。

3 小　结

多种信号分子可通过不同的信号转导通路激活MLCK，导致肠黏膜上皮屏障功能紊乱。其中MLCK介导的MLC磷酸化为MLCK介导肠黏膜通透性增加的关键环节，同时也是细胞内多种信号通路的中心环节。MLCK活性及其蛋白质表达水平增加均可引起MLC磷酸化程度增加，细胞间TJ发生改变，导致细胞收缩和细胞间隙增大，从而影响肠黏膜上皮屏障

功能，通透性增加。近年来，MLCK 介导肠黏膜上皮屏障损伤机制的研究取得了很多进展，但有关这方面的研究主要集中在人类和单胃动物上，在反刍动物上的研究较少，因此，有必要进一步探索 MLCK 对反刍动物肠黏膜上皮屏障功能及分子调控机制的影响。同时，随着大数据时代的到来，生物信息学在动物营养学代谢疾病的研究中取得广泛应用，这对更好地挖掘参与 MLCK 介导反刍动物肠黏膜通透性改变的关键信号通路以及相关的上下游功能基因具有指导意义，更为今后探索防治肠黏膜上皮屏障功能损害的新型技术措施提供理论依据。

参考文献：

[1] BARRETT K E.New ways of thinking about (and teaching about) intestinal epithelial function[J].Advances in Physiology Education,2008,32(1):25–34.

[2] YAN L,YANG C H,TANG J G.Disruption of the intestinal mucosal barrier in *Candida albicans* infections[J].Microbiological Research,2013,168(7):389–395.

[3] GOSAIN A,GAMELLI R L.Role of the gastrointestinal tract in burn sepsis[J].Journal of Burn Care and Rehabilitation,2005,26(1):85–91.

[4] NAGPAL K,MINOCHA V R,AGRAWAL V,et al.Evaluation of intestinal mucosal permeability function in patients with acute pancreatitis[J].The American Journal of Surgery,2006,192(1):24–48.

[5] DU L,KIM J J,SHEN J,et al.Crosstalk between inflammation and ROCK/MLCK signaling pathways in gastrointestinal disorders with intestinal hyperpermeability[J].Gastroenterology Research and Practice,2016,2016:7374197.

[6] EIKEMO H,MOLTZAU L R,HUSSAIN R I,et al.CaMK II in addition to MLCK contributes to phosphorylation of regulatory light chain in cardiomyocytes[J].Biochemical and Biophysical Research Communications,2016,471(1):219–225.

[7] KAMM K E,STULL J T.Dedicated myosin light chain kinases with diverse cellular functions[J].Journal of Biological Chemistry,2001,276(7):4527–4530.

[8] HE W Q,PENG Y J,ZHANG W C,et al.Myosin light chain kinase is central to smooth muscle contraction and required for gastrointestinal motility in

mice[J].Gastroenterology,2008,135(2):610–620.e2.

[9] CHEN D P,LIN Y,XIONG Y J.Epithelial MLCK and smooth muscle MLCK may play different roles in the development of inflammatory bowel disease[J].Digestive Diseases and Science,2014,59(5):1068–1069.

[10] SHEN L,TURNER J R.Role of epithelial cells in initiation and propagation of intestinal inflammation.Eliminating the static:tight junction dynamics exposed[J].American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology,2006,290(4):G577–G582.

[11] FENG H,HALDEMAN B D,JACKSON D,et al.Biochemistry of smooth muscle myosin light chain kinase[J].Archives of Biochemistry and Biophysics,2011,510(2):135–146.

[12] SMITH L,SU X P,LIN P J,et al.Identification of a novel actin binding motif in smooth muscle myosin light chain kinase[J].Journal of Biological Chemistry,1999,274(41):29433–29438.

[13] GALLAGHER P J,STULL J T.Localization of an actin binding domain in smooth muscle myosin light chain kinase[J].Molecular and Cellular Biochemistry,1997,173(1/2):51–57.

[14] YE L H,HAYAKAWA K,KISHI H,et al.The structure and function of the actin-binding domain of myosin light chain kinase of smooth muscle[J].Journal of Biological Chemistry,1997,272(51):32182–32189.

[15] YANG X,WANG J G,MA D B,et al.Myosin light chain kinase regulates hearing in mice by influencing the F-actin cytoskeleton of outer hair cells and cochleae[J].International Journal of Molecular Medicine,2014,33(4):905–912.

[16] ROUX E,MBIKOU P,FAJMUT A.Role of protein kinase network in excitation-contraction coupling in smooth muscle cell[M].Intech Open Access Publisher,2012:287-320.

[17] CHAMPAGNE M B,EDWARDS K A,ERICKSON H P,et al.*Drosophila* stretchin-MLCK is a novel member of the titin/myosin light chain kinase family[J].Journal of Molecular Biology,2000,300(4):759–777.

[18] HEIERHORST J,TANG X X,LEI J Y,et al.Substrate specificity and inhibitor sensitivity of Ca^{2+}/S100-dependent twitchin kinases[J].European Journal of Biochemistry,1996,242(3):454–459.

[19] SMITH J L,SILVEIRA L A,SPUDICH J A.Activation of dictyostelium myosin light chain kinase A by phosphorylation of Thr166[J].EMBO Journal,1996,15(22):6075–6083.

[20] SHEN L,BLACK E D,WITKOWSKI E D,et al.Myosin light chain phosphorylation regulates barrier function by remodeling tight junction structure[J].Journal of Cell Science,2006,119(10):2095–2106.

[21] CONNELL L E,HELFMAN D M.Myosin light chain kinase plays a role in the regulation of epithelial cell survival[J].Journal of Cell Science,2006,119(11):2269–2281.

[22] HONG F,HALDEMAN B D,JOHN O A,et al.Characterization of tightly associated smooth muscle myosin-myosin light-chain kinase-calmodulin complexes[J].Journal of Molecular Biology,2009,390(5):879–892.

[23] GAO N,HUANG J,HE W Q,et al.Signaling through myosin light chain kinase in smooth muscles[J].Journal of Biological Chemistry,2013,288(11):7596–7605.

[24] BELVITCH P,ADYSHEV D,ELANGOVAN V R,et al.Proline-rich region of non-muscle myosin light chain kinase modulates kinase activity and endothelial cytoskeletal dynamics[J].Microvascular Research,2014,95:94–102.

[25] SIMARD E,KOVACS J J,MILLER W E,et al.β-arrestin regulation of myosin light chain phosphorylation promotes AT1aR-mediated cell contraction and migration[J].PLoS One,2013,8(11):e80532.

[26] HARHAJ N S,ANTONETTI D A.Regulation of tight junctions and loss of barrier function in pathophysiology[J].International Journal of Biochemistry and Cell Biology,2004,36(7):1206-1237.

[27] MARTÍNEZ C,GONZÁLEZ-CASTRO A,VICARIO M,et al.Cellular and molecular basis of intestinal barrier dysfunction in the irritable bowel syndrome[J].Gut and Liver,2012,6(3):305–315.

[28] BLAIR S A,KANE S V,CLAYBURGH D R,et al.Epithelial myosin light chain kinase expression and activity are upregulated in inflammatory bowel disease[J].Laboratory Investigation,2006,86(2):191–201.

[29] TURNER J R.Molecular basis of epithelial barrier regulation:from basic mechanisms to clinical application[J].The American Journal of Pathology,2006,169(6):1901–1909.

[30] CHEN C,TAO T,WEN C,et al.Myosin light chain kinase (MLCK) regulates cell migration in a myosin regulatory light chain phosphorylation-independent mechanism[J].Journal of Biological Chemistry,2014,289(41):28478–28488.

[31] BIRUKOVA A A,TIAN X Y,COKIC L,et al.Endothelial barrier disruption and recovery is controlled by substrate stiffness[J].Microvascular Research,2013,87:50–57.

[32] CAO M,WANG P,SUN C H,et al.Amelioration of IFN-γ and TNF-α-induced intestinal epithelial barrier dysfunction by berberine via suppression of MLCK-MLC phosphorylation signaling pathway[J].PLoS One,2013,8(5):e61944.

[33] MU X W,PAN C,ZHENG S Y,et al.Protective effects of carbon monoxide-releasing molecule-2 on the barrier function of intestinal epithelial cells[J].PLoS One,2014,9(8):e104032.

[34] STURGILL T W,RAY L B,ANDERSON N G,et al.Purification of mitogen-activated protein kinase from epidermal growth factor-treated 3T3-L1 fibroblasts[J].Methods in Enzymology,1991,200:342–351.

[35] KYRIAKIS J M,AVRUCH J.Mammalian mitogen-activated protein kinase signal transduction pathways activated by stress and inflammation[J].Physiological Reviews,2001,81(2):807–869.

[36] AL-SADI R,YE D M,SAID H M,et al.Cellular and molecular mechanism of interleukin-1β modulation of Caco-2 intestinal epithelial tight junction barrier[J].Journal of Cell Molecular Medicine,2011,15(4):970–982.

[37] 丁少桢,丁浩,梅俏,等.同型半胱氨酸调控 MEK-ERK-MLCK 通路影响结肠炎大鼠肠黏膜通透性的实验研究[J].中国药理学通报,2016,32(4):498–502.

[38] MORIEZ R,SALVADOR-CATTIER C,THEODOROU V,et al.Myosin light chain kinase is involved in lipopolysaccharide-induced disruption of colonic epithelial barrier and bacterial translocation in rats[J].The American Journal of Pathology,2005,167(4):1071–1079.

[39] ZOLOTAREVSKY Y,HECHT G,KOUTSOURIS A,et al.A membrane-permeant peptide that inhibits MLC kinase restores barrier function in *in vitro* models of intestinal disease[J].Gastroenterology,2002,123(1):163–172.

[40] 陈传莉.肌球蛋白轻链激酶介导的肌球蛋白轻链磷酸化在严重烧伤早期肠黏膜屏障损害中的作用[D].硕士学位论文.重庆:第三军医大学西南医院烧伤研究所,2009.

[41] YUEN S L,OGUT O,BROZOVICH F V.Differential phosphorylation of LZ+/LZ-MYPT1 isoforms regulates MLC phosphatase activity[J].Archives of Biochemistry and Biophysics,2014,562:37–42.

[42] CARBAJAL J M,SCHAEFFER R C,Jr.RhoA inactivation enhances endothelial barrier function[J].American Journal of Physiology：Cell Physiology,1999,277(5 Pt 1):C955–C964.

[43] INOUE M,KISHIMOTO A,TAKAI Y,et al.Studies on a cyclic nucleotide-independent protein kinase and its proenzyme in mammalian tissues. Ⅱ. Proenzyme and its activation by calcium-dependent protease from rat brain[J].Journal of Biological Chemistry,1977,252(21):7610–7616.

[44] XU W C,ZHOU Q,ASHENDEL C L,et al.Novel protein kinase C inhibitors:synthesis and PKC inhibition of β-substituted polythiophene derivatives[J].Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,1999,9(15):2279–2282.

[45] 于淼,杨万超,李文志.蛋白激酶 C 信号通路在血脑屏障损伤中的研究进展[J].疑难病杂志,2016,15(2):209–212.

[46] TURNER J R,ANGLE J M,BLACK E D,et al.PKC-dependent regulation of transepithelial resistance:roles of MLC and MLC kinase[J].American Journal of Physiology,1999,277(3):C554–C562.

[47] CLAPHAM D E.Calcium signaling[J].Cell,2007,131(6):1047–1058.

[48] SANDERS K M,SANG D K,RO S,et al.Regulation of gastrointestinal motility—insights from smooth muscle biology[J].Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology,2012,9(11):633–645.

[49] 陈意,李方方,张勇,等.肠黏膜上皮组织紧密连接的生物学功能和作用机理[J].动物营养

学报,2017,29(9):3068–3074.

[50] MA T Y,TRAN D,HOA N,et al.Mechanism of extracellular calcium regulation of intestinal epithelial tight junction permeability:role of cytoskeletal involvement[J].Microscopy Research and Technique,2000,118(4):156–168.

Research Progress of Effects of Myosin Light Chain Kinase on Regulation of Intestinal Mucosal Epithelial Barrier Function

WANG Mengya[1,2] GAO Min[2] XU Ming[1] HU Honglian[2*]

(1. *College of Animal Sciences, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot* 010018, *China;*

2. *Research Institute of Animal Nutrition and Feed, Inner Mongolia Academy of Animal Sciences, Hohhot* 010031, *China*)

Abstract: The change of intestinal permeability is closely related to the regulation of myosin light chain kinase (MLCK). The cytoskeletal contraction caused by MLCK mediated phosphorylated myosin light chain (P-MLC) is an essential factor in the destruction of intestinal mucosal epithelial barrier function. A variety of signaling molecules can activate MLCK by different signal pathways, and cause intestinal mucosal epithelial barrier dysfunction. This paper elaborated the structure and biological functions of MLCK and the regulation and mechanism of MLCK on the intestinal mucosal epithelial barrier in different signal pathways, and to provide ideas and theoretical support for the future exploration of new measures to prevent the damage of intestinal mucosal epithelial barrier function.

Key words: myosin light chain kinase; myosin light chain; intestinal mucosal epithelial; permeability; mechanism

*Corresponding author, professor, E-mail: honglianhu2010@163.com （责任编辑 李慧英）